

***Alphitobius diaperinus* como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista – Brasil**

***Alphitobius diaperinus* as a vector of *Clostridium perfringens* in broiler houses in the state of São Paulo – Brazil**

**Juliano Vittori^I Rubén Pablo Schocken-Iturrino^{I*} Kátia Prochnon Trovó^I
César Augusto Martins Ribeiro^{II} Gislane Gomes Barbosa^I
Luciano Melo de Souza^{II} Caroline Peters Pigatto^{II}**

- NOTA -

RESUMO

*O besouro **Alphitobius diaperinus** (cascudinho) é visto como uma importante praga da avicultura mundial. Por suas características comportamentais e hábitos biológicos que dificultam seu controle, é considerado um vetor de agentes patogênicos. O objetivo desta pesquisa foi investigar o cascudinho como possível vetor de **Clostridium perfringens** em granjas avícolas industriais, localizadas em diferentes regiões do interior Paulista. Através de métodos bacteriológicos convencionais, em 40 amostras analisadas, foram encontradas contagens significativas de **Clostridium perfringens** em todas elas. A partir dos resultados obtidos, pôde-se demonstrar o potencial deste inseto como vetor do agente responsável pela enterite necrótica.*

Palavras-chave: avicultura, *Clostridium perfringens*, cascudinho, enterite necrótica.

ABSTRACT

*The **Alphitobius diaperinus** (lesser mealworm) is considered an important world poultry plague. Due to its behavior characteristics and biological habits that make its control difficult it is considered a vector of pathogenic agents. The objective of this research was to investigate the little mealworm as possible vector of **Clostridium perfringens** in broiler houses, located in different parts of the state of São Paulo. Through conventional bacteriological methods, 40 samples of little mealworm collected were analyzed. **Clostridium perfringens** was found in all of the samples and the potential of this insect as vector of the necrotic enteritis was demonstrated.*

Key words: poultry brooder houses, *Clostridium perfringens*, lesser mealworm, necrotic enteritis.

A avicultura é um dos setores agropecuários que mais tem crescido nas últimas décadas. Os frangos de corte oriundos de granjas são abatidos cada vez mais precocemente, sendo criados de maneira intensiva e submetidos a vários fatores de estresse como: vacinações, transporte, superlotação de galpões, excesso de frio e/ou calor, bem como a presença de insetos (AVISITE, 2004).

O besouro *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como “cascudinho”, é encontrado em grande quantidade em cama de frango. A criação em confinamento proporcionou ao cascudinho um habitat ideal para a sua multiplicação, transformando-o num problema mundial. As formas larval e adulta são descritas como mantenedoras de patógenos viáveis na sua superfície externa e no seu trato digestivo (PAIVA, 2000).

Por suas características comportamentais e hábitos biológicos que dificultam seu controle e o caracterizam como “transportador e disseminador” de patógenos, o cascudinho passou a ser considerado importante agente causador de prejuízos econômicos e sanitários na produção avícola (BATES et al., 2004). Dentre os patógenos que podem ser veiculados pelo cascudinho, ressalta-se *Clostridium perfringens*.

Clostridium perfringens é uma bactéria em forma de bastonete, Gram positivo, anaeróbia, com esporos subterminais e centrais (SCHOCKEN-ITURRINO & ISHI, 2000). Produz vários tipos de toxinas, mas é classificada de A a E, em razão das toxinas

^IDepartamento de Microbiologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zona Rural, 14870-970, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: pablo@fcav.unesp.br. *Autor para correspondência.

^{II}Departamento Medicina Veterinária Preventiva, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil

alfa, beta, epsilon, teta, iota, kappa, lambda e mú, capazes de provocar patologias diversas, principalmente a enterite necrótica (CARTER, 1998). Esta doença é uma enterotoxemia aguda não-contagiosa, com início súbito, e apresenta necrose confluyente do intestino delgado, que, em infecções subclínicas, provoca redução na absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, menor ganho de peso e piora na conversão alimentar. A enterite necrótica é encontrada principalmente em animais jovens, sendo causada pelos tipos A e C de *Clostridium perfringens* (SCHOCKEN-ITURRINO & ISHI, 2000). O objetivo desta pesquisa foi investigar o potencial do besouro *Alphitobius diaperinus* como vetor de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas industriais, localizadas em diferentes regiões do interior paulista.

Foram obtidas 40 amostras de *Alphitobius diaperinus*, no período de agosto de 2005 a fevereiro de 2006. Destas, 50% foram colhidas em galpões avícolas localizados na região de Sertãozinho (SP), e o restante foi proveniente de galpões situados na região de Descalvado (SP).

Cada amostra era constituída de aproximadamente 700 besouros adultos, pesando cerca de 10g. Para tal, os insetos eram coletados em pontos aleatórios dos galpões, sendo posteriormente acondicionados em recipiente de vidro estéril, fechado e transportado em caixa de isopor até o laboratório para as análises. Após pesagem dos besouros, esses foram triturados com areia estéril em um cadinho de porcelana e diluídos em 90mL de peptona 0,1% previamente esterilizada. Esta solução foi submetida à homogeneização por três minutos manualmente e feitas diluições seriadas até 10^{-3} . Aliquotas de 1mL das diluições foram semeadas, em duplicata, pelo método "pour plate" em placas de petri com adição do meio agar sulfito-polimixina-sulfodiazina (SPS-Oxoid), previamente esterilizado e fundido. O material foi incubado em condições de anaerobiose utilizando jarras com sistema Gas-Pak, à temperatura de 37°C, por 24-48 horas (SPECK, 1992). Para confirmar a pureza das colônias típicas, estas foram repicadas em placas contendo meio SPS e incubadas nas mesmas condições citadas anteriormente (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 1988). Os esfregaços destas colônias foram corados pelo método de Gram para observação microscópica. Para identificação, cinco colônias típicas de cada placa eram submetidas à série bioquímica a partir das colônias de bastonetes Gram-positivos esporulados e catalase negativa, sendo estas repicadas em tubos de infusão de cérebro e coração (BHI- Difco), incubados em anaerobiose, a 37°C, por 24 horas (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 1988). Os testes bioquímicos realizados foram: prova da gelatinase, motilidade, fermentação de lactose, maltose, sacarose, salicina, produção de indol, nitrato e H_2S (CARTER et al., 1995).

Para a análise estatística, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, sendo composto por dois tratamentos, com 20 repetições cada. Os dados das contagens microbianas foram transformados em Log_{10} , sendo submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Clostridium perfringens foram isolados em todas as 40 amostras de *Alphitobius diaperinus* analisadas. Este dado revela a importância do controle dos cascudinhos para evitar a disseminação da enterite necrótica causadora de grandes prejuízos econômicos. Após ampla revisão de literatura, não foram encontrados relatos de isolamento de *Clostridium perfringens* em amostras envolvendo o agente *Alphitobius diaperinus* no mundo. Por isso, a caracterização desse inseto como veiculador desta bactéria torna este estudo relevante para a avicultura brasileira. Na Tabela 1, nota-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nas contagens de *Clostridium perfringens* em *Alphitobius diaperinus* nas diferentes regiões estudadas. As médias para as contagens em UFC/g variaram de 2×10^1 a $1,12 \times 10^3$ em Descalvado e 9×10^1 a $9,4 \times 10^3$ nas amostras de Sertãozinho.

A participação do *Alphitobius diaperinus* como vetor de agentes patogênicos foi comprovada nos relatos de HOFSTAD et al. (1972), SAFRIT & AXTELL (1984), BALDASSI et al. (1995), PAIVA (2000), GOMES (2000), WATSON et al. (2003) e SKOV et al. (2004), que isolaram *Eimeria*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Aspergillus*, vírus causadores das doenças de Marek, Influenza aviária, Gumboro e Newcastle, reovírus, rotavírus e enterovírus em diferentes partes do mundo. É considerado também vetor da leucose aviária (DESPINS & AXTELL, 1995). JENSEN et al. (2006), em investigações realizadas em granjas da Dinamarca, estabeleceram a correlação entre a presença de *Salmonella typhimurium* e de *Alphitobius diaperinus*, observando-se que a eliminação da bactéria nos plantéis somente foi possível quando ocorreu a eliminação do coleóptero. No mesmo país, HALD et al. (1998), isolaram *Salmonella enterica* sorovar Infantis em 45% dos cascudinhos amostrados no período em que a granja estava vazia, ou seja, no intervalo entre a saída e chegada de lotes. Desta forma, o inseto contaminará o novo lote de aves.

No Brasil, CHERNAKI-LEFFER et al. (2002) encontraram *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakasaki*, *Citrobacter diversus* e *Klebsiella pneumoniae*, causadores de diversas patologias em aves em cascudinhos da região oeste do Estado do Paraná. Trabalho semelhante foi realizado em granjas de perus e frangos nos Estados de Santa Catarina e

Tabela 1 - Médias das contagens de *Clostridium perfringens* (Log₁₀), de amostras de *Alphitobius diaperinus* colhidas em 2 regiões avícolas no período de agosto/2005 a fevereiro/2006.

Granjas avícolas	<i>Clostridium perfringens</i> (Log ₁₀)	Coefficiente de variação	DMS*
Sertãozinho	3,223 a	24,90%	0,497
Descalvado	3,019 a		

Médias seguidas de mesmas letras não diferem (P>0,05) pelo Teste de Tukey.

* Desvio médio significativo.

Rio Grande do Sul, onde foram encontrados 14 espécies de dez gêneros de bactérias da família Enterobacteriaceae (SEGABINAZI et al., 2005). A presença destas enterobactérias nos cascudinhos demonstra o grande potencial deste inseto em albergar bactérias patogênicas para as aves também em nosso país.

A partir dos resultados obtidos, demonstrou-se o potencial do *Alphitobius diaperinus* como vetor do *Clostridium perfringens* em granjas avícolas. O combate deste agente, através de controle químico ou biológico, bem como de um manejo higiênico sanitário adequado dos animais e do ambiente, é fundamental, em vista que essa praga pode carrear agentes patogênicos com potencial de causar danos econômicos na criação avícola.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

AVISITE. **Estatísticas e preços de carne de frango**. Capturado em 20 de out. 2004. Online. Disponível na Internet: <http://www.avisite.com.br/noticias/default.asp>.

BALDASSI, L. Necrotic enteritis on broilers in São Paulo State. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.62, n.1/2, p.37-43, 1995.

BATES, C. et al. Relationship of Campylobacter isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. **Avian Diseases**, Washington, v.48, p.138-147, 2004.

CARTER, G.R. et al. **Essentials of veterinary microbiology**. 5.ed. London: Williams & Wilkins, 1995. 394p.

CARTER, G.R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1998. 249p.

CHERNAKI-LEFFER, A.M. et al. Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na Cama de Aviários no oeste do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.4, p.243-247, 2002.

DESPINS, J.L.; AXTELL, R.C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius*

diaperinus. **Poultry Science**, Savoy, v.74, p.331-336, 1995. GOMES, J.P.C. Controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2000, Chapecó- SC. **Anais...** Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, 2000. p.143-147.

HALD, B. et al. *Typhaea stercorea* (Coleoptera: Mycetophagidae), a Carrier of *Salmonella enterica* serovar Infantis in a Danish Broiler House. **Veterinary Entomology**, Whashington, v.91, n.3, p.660-664, 1998.

HOFSTAD, M. et al. In: CALNECK, B.W. et al. **Diseases of Poultry**. 7.ed. Ames: Iowa State Univ., 1972. 365p.

JENSEN, A.N. et al. Survival and transmission of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in an outdoor organic pig farming environment. **Applied and Environmental Microbiology**, Quebec, v.72, n.3, p.1833-1842, 2006.

PAIVA, D.P. Cascudinhos: biologia. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2000, Chapecó-SC. **Anais...** Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, 2000. p.135-139.

SAFRIT, R.D.; AXTELL, R.C. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the little of turkey and broiler houses. **Poultry Science**, Savoy, v.63, p.2368-2375, 1984.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Isolation and characterization of pathogenic Clostridium in meat products. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v.4, n.1, p.91-98, 1988.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ISHI, M. Clostridioses em aves. In: BERCHIERI Jr, A., MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: Facta, 2000. p.242-243.

SEGABINAZI, S. D. et al. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.33, n.1, p.51-55, 2005.

SKOV, M.N. et al. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and *Thermophilic Campylobacter* spp. between broiler flocks. **Avian Diseases**, Whashington, v.48, p.9-18, 2004.

SPECK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, 1992. 701p.

WATSON, D.W. et al. Effects of lime hydrate on the growth and development on darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **International Journal of Poultry Science**, Whashington, v.2, n.2, p.91-96, 2003.